

BAKTERIÁLIS FERTŐZÉSEK HATÁSA A REPRODUKTÍV EGÉSZSÉGRE

A PhD értekezés tézisei

Dr. Párducz László

BÉKÉS MEGYEI KÖZPONTI KÓRHÁZ, PÁNDY KÁLMÁN TAGKÓRHÁZ,
SZÜLÉSZETI ÉS NŐGYÓGYÁSZATI OSZTÁLYA



**Szegedi Tudományegyetem
Általános orvostudományi Kar
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola**

**Témavezető: Dr. Virok Dezső, Ph.D, egyetemi docens
Szegedi Tudomány Egyetem, AOK,
Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet**

Szeged

2017

Az értekezés alapját képező közlemények

- I. Juhász E., Ostorházi E., Pónyai K., Silló P., **Párducz L.**, Marschalkó M., Rozgonyi F.: Ureaplasmas: from commensal flora to infectious diseases. *Rev. Med. Microbiol.* 2011, **22**: 73-83. **(IF:0.370)**
- II. Farkas B, Ostorházi E, Pónyai K, Tóth B, Adlan E, **Párducz L**, Marschalkó M, Kárpáti S, Rozgonyi F.: Az *Ureaplasma urealyticum* és a *Mycoplasma hominis* antibiotikum érzékenysége és gyakorisága szexuálisan aktív egyének genitális mintáiban [Frequency and antibiotic resistance of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in genital samples of sexually active individuals]. *Orv Hetil.* 2011 Oct 16;152(42):1698-702.
- III. Pónyai K, Mihalik N, Ostorházi E, Farkas B, **Párducz L**, Marschalkó M, Kárpáti S, Rozgonyi F.: Incidence and antibiotic susceptibility of genital mycoplasmas in sexually active individuals in Hungary. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013 Nov;32(11):1423-6. **(IF:2.544)**
- IV. Nemes-Nikodém É, Vörös E, Pónyai K, **Párducz L**, Kárpáti S, Rozgonyi F, Ostorházi E. The importance of IgM positivity in laboratory diagnosis of gestational and congenital syphilis. *Eur J Microbiol Immunol (Bp).* 2012 Jun;2(2):157-60.
- V. **Párducz L**, Eszik I, Wagner G, Burián K, Endrész V, Virok DP. Impact of antiseptics on *Chlamydia trachomatis* growth. *Lett Appl Microbiol* 2016 Oct;63(4):260-7. **(IF:1.579)**

Az értekezés témakörébe tartozó közlemények

- I. **Párducz L.**, Ostorházi E., Pónyai K., Mihalik N., Párduczné Szöllősi A., Rozgonyi F.: A reprodukciót befolyásoló fiatalkori bakteriális STD fertőzések. *Nőgyógy. Szül. Továbbk Szemle* 2013, **15**: 97-101.
- II. **Párducz L.:** Az alsó genitális tractus fertőzései. In: *A Nőgyógyászat kézikönyve* (Szerk.: Papp Z.) Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2017. 836-856.

Bevezetés

Bakteriális fertőzések a reproduktív szervek közvetlen fertőzésével, vagy akár egy távoli/általános fertőzés hematogén szórásával is befolyásolhatják a reproduktív egészséget. A nemi úton terjedő bakteriális fertőzéseket elsősorban a *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* és az *Ureaplasma parvum* fajok okozzák. A nemi úton terjedő fertőzések számos vizsgálat tárgyát képezték Magyarországon az elmúlt 20–30 évben, ugyanakkor az intracelluláris parazita *Mycoplasma* család által okozott fertőzéseket továbbra is csak kevésbé tanulmányozzák. Ez számos okkal magyarázható: a mycoplasmák környezeti tényezők iránti extrém érzékenységevel, a nehézkes szállítással és tenyésztéssel, valamint a specifikus szerológiai vizsgálatok hiányával. A mintavételezés, a tenyésztés és az antibiotikum-érzékenység vizsgálatának technikai fejlődése lehetővé tette, hogy ma már *in vitro* körülmények között tenésztethetünk *Mycoplasma* fajokat és rutinszerűen végezhetünk antibiotikum-érzékenységi vizsgálatokat *Mycoplasma* és *Ureaplasma* izolátumokon. Mivel a fenotípusos jellegek alapján nem lehet megkülönböztetni az *U. parvum* és *U. urealyticum*, valamint a *M. genitalium* és *M. hominis* fajokat egymástól, és genotipizálás nem állt rendelkezésünkre a vizsgálatok végzésekor, ezért mindkét *Ureaplasma* fajra az *U. urealyticum*, valamint mindkét *Mycoplasma* fajra a *M. hominis* megnevezést használtuk. A *Mollicutes* osztályba tartozó több fajról bebizonyosodott, hogy az emberi szervezetben kolonizációra képes és betegséget okoz. A korábban már említett *M. hominis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum* és *U. parvum* urogenitális kórokozók. A női urogenitális traktus fertőzései és annak szövődményei közé tartozik az urethritis, a salpingitis, a kismedence gyulladásos betegségei, a chorioamnionitis, a koraszülés, a habituális abortusz, a posztpartum szepszis, a neonatális tüdőgyulladás és a szepszis. Férfiaknál az akut és krónikus urethritis, akut és krónikus prostatitis, epididymitis, epididymoorchitis és oligoasthenospermiát kell kiemelni. Fontos megemlíteni, hogy a genitális mycoplasmák/ureaplasmák viszonylag gyakran tünetmentesen fordulnak elő szexuálisan aktív egyének genitális nyálkahártyáján.

Az értekezés első részében az *U. urealyticum* incidenciáját és antibiotikum-érzékenységét tárgyaljuk olyan szexuálisan aktív magyar egyének urogenitális mintáiból, akik a budapesti Semmelweis Egyetem Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika Országos STD Centrumának járóbeteg-ellátásán jelentek meg.

A szifilisz társadalmi–gazdasági hatása jelentős. Az amerikai Járványkezelési- és Megelőzési Központ (Centers for Disease Control and Prevention; CDC) adatai szerint a szifilisz

prevalenciája az 1940-es években körülbelül 400 eset/100 000 lakos volt az antibiotikum-érát megelőzően. A szifilisz prevalenciája ezt követően folyamatosan csökkent, 2000–2001 között 100 000 egyénre vonatkoztatva 2,1 volt. 2001 után a szifilisz esetek száma egyre emelkedett, míg 2015-re elérte a 7,5 eset/100 000 lakos gyakoriságot. A szifilisz prevalenciája korrelációt mutatott a nemi hovatartozással és a szexuális viselkedéssel (legmagasabb a férfiak körében, különösen érintettek a homoszexuálisak), valamint az életkorral (a 20–24 és a 24–29 éves korcsoportokban volt a legmagasabb). Rasszok és régiók szerint is különbözött a szifilisz prevalenciája. Fontos továbbá megjegyezni, hogy a felnőtt szifilisz esetek számának növekedésével párhuzamosan a veleszületett szifilisz előfordulásának aránya is növekedett a 2000-es években, és 2015-re 100 000 élveszületőből elérte a 12,4 esetszámot. A magyar epidemiológiai adatok hasonló tendenciát mutatnak. 2012-ben a szifilisz megbetegedések száma 10%-kal nőtt a 2011-es adatokhoz képest, több mint háromszor volt gyakoribb férfiaknál, mint nőknél. Férfiaknál a 25–29 éves korcsoportban, míg nőknél a 20–24 éveseknél találtak a legmagasabb prevalenciát. A regionális incidencia Budapesten volt a legmagasabb, vidéken pedig Bács–Kiskun megyében.

Az értekezés második részében a szifilisz szeropozitivitását vizsgáltuk a Semmelweis Egyetem Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinikájának Országos STD Mikrobiológiai Diagnosztikai Laboratóriumába 2009. január 1. és 2011. december 31. között küldött 33 753 szérummintából kiszűrt 241 terhes nőben. Megvizsgáltuk, hogy a szifilisz anyák *T. pallidum* IgM státusza jobban képes-e jelezni a veleszületett szifilisz veszélyét mint a Rapid Plasma Reagin (RPR) teszt, és értékeltük az IgM Western blotok alkalmazását veleszületetten szifilisz csecsemők szűrésére.

A *C. trachomatis* obligát intracelluláris baktérium a kötőhártya és az urogenitális traktus hámsejtjei iránti tropizmussal. Perzisztáló fertőzéseket és krónikus gyulladást okozhat. A helyi gyulladás tarsus, ill. petevezeték fibrózishoz vezethet, és vakságot vagy meddőséget okozhat. Szexuális úton terjedő fertőzéseket (sexually transmitted infection, STI) leggyakrabban az urogenitális traktust megtámadó *C. trachomatis* patogén D–K és L1–L3 szerovariánsai okoznak. Az antiszeptikumok nem képezik részét az *Chlamydia*-ellenes terápiának, mégis többféle intravaginális alkalmazásuk létezik, beleértve egyrészt a posztoperatív fertőzések kivédését császármetszés után, a transzvaginális ultrahangos petesejtgyűjtést, a HPV által kiváltott méhnyaki elváltozások sebészeti kezelését és más invazív eljárásokat, másrészt a korai megjelenésű újszülöttkori B csoportú *Streptococcus* fertőzés prevencióját.

A dolgozat harmadik részében a vizes jódoldat, a povidon-jód, a klórhexidin és a borax *Chlamydia*-ellenes hatásait vizsgáljuk. Ezeket az antiszeptikumokat bakteriális vaginózis

kezelésére használják, ugyanakkor hatásukat *C. trachomatis* fertőzésre ezidáig nem vizsgálták. A bakteriális vaginózis gyakori diszbiózis, amelyben a normális *Lactobacillus* által dominált flórát egy anaerob/aerob polimikrobiális flóra váltja fel. A bakteriális vaginózis növeli a STI-k kockázatát, beleértve a gyakori *C. trachomatis* fertőzést. Az intravaginális antiszeptikumok alkalmazása a bakteriális vaginózis kezelésének részét képezi, amely ideális esetben gátolniuk kellene a bakteriális vaginózissal kapcsolatos STI-ket is. Ezen adatok ismeretében négy antiszeptikum *Chlamydia*-ellenes aktivitását vizsgáltuk: a vizes jódoldatét, a povidon-jódét, a klórhexidinét és a boraxét.

Célkitűzések

- I. Meghatározni az *U. urealyticum/parvum* infekciók incidenciáját a szexuálisan aktív magyar lakosság körében, korcsoportonként tagolva.
- II. Vizsgálni az *Ureaplasma*-fertőzött betegek kor szerinti eloszlását és tüneteik gyakoriságát.
- III. Meghatározni az ezekből az egyénekből izolált *U. urealyticum/parvum* antibiotikum-rezisztencia spektrumát.
- IV. Értékelni, hogy a *T. pallidum* IgM Western blotok milyen hatékonysággal használhatóak az újszülöttkori kongenitális szifilisz felismerésében összehasonlítva az RPR, *T. pallidum* részecskeagglutináció (*T. pallidum* particle agglutination, TPPA) és enzim immunoszorbens (enzyme immunosorbent assay, EIA) vizsgálatokkal.
- V. Meghatározni a vizes jódoldat, a povidon-jód, a klórhexidin és a borax *Chlamydia*-ellenes hatását.

Anyagok és módszerek

***Ureaplasma/Mycoplasma* kimutatása és antibiotikum-érzékenységének meghatározása**

2114 nőtől és 2040 férfitől mindösszesen 4154 mintát vettünk 15–60 éves koreloszlással a magyarországi *Ureaplasma/ Mycoplasma* törzsek incidenciájának és antibiotikum-érzékenységének meghatározása céljából. A minták tenyésztéséhez a Mycoplasma Duo készletet (Bio-Rad, Franciaország) használtuk, 48 órás inkubációs idővel, 37° C-on, 5% CO₂ koncentráció mellett. A hat év alatt összegyűjtött 373 *Ureaplasma* törzs antibiotikum-érzékenységének meghatározására az SIR Mycoplasma készletet (Bio-Rad) U9 táptalajában a tenyésztéssel azonos körülmények között.

Az anyai és a veleszületett szifilisz szerológiai diagnózisa

A 33 753 szérumminta szifiliszre történő előzetes szűrését követően az RPR (Omega Diagnostics, Egyesült Királyság), TPPA (Fujirebio Inc., Japán) és EIA (Syphilis II-EIA, BioRad, Franciaország) tesztek segítségével 241 anyai szérummintát és az újszülötteiktől származó 242 szérummintát vizsgáltunk meg. A 483 szérummintából készült IgM Western blot (MAST, Egyesült Királyság), azonban az újszülöttek szérumából származó IgM-IgG komplex és az anyai IgG Mastorb (MAST, Egyesült Királyság) rendszerrel került kiértékelésre. A 241 anyai szérummintából IgG Western blotokat (MAST, Egyesült Királyság) készítettünk. Az egyik újszülöttnél neuroszifiliszhez hasonló tüneteket észleltek, a diagnózist Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) teszttel (Omega Diagnostics, Egyesült Királyság) és TPPA teszttel erősítettük meg liquorból.

***C. trachomatis* szaporítás és HeLa sejtkultúra**

C. trachomatis szerovariáns D törzset (UW-3/CX, ATCC) használtunk, felszaporítva és részlegesen tisztítva. A HeLa 229 sejteket (ATCC) 100 µl minimális esszenciális közegben (minimal essential medium, MEM) inkubáltuk Earle-sók és 10% hővel inaktivált magzati borjúsérum jelenlétében..

3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólium-bromid (MTT) vizsgálat

A HeLa sejteken az antiszeptikumok legnagyobb nem toxikus koncentrációinak meghatározására MTT próbát végeztünk. 100%-os életképességnek három egységnyi (well) kezeletlen HeLa sejt átlagos életképességét (OD 540) vettük. A kezelt sejtek életképességét összehasonlítottuk a kezeletlen kontrollok életképességével az alábbi szempontok szerint: sejtéletképesség (%) = (kezelt sejtek OD 540 értéke/ kezeletlen sejtek OD 540 értéke) x 100.

A *C. trachomatis* szaporodás gátlására használt antiszeptikumok, *C. trachomatis* fertőzés és DNS extrakció

Vizes jóddoldatot, povidon-jódot (Betadine, EGIS, Budapest), klórhexidin-diglukonátot (Chlorhexamed, GlaxoSmithKline, Brentford, Egyesült Királyság) és boraxot szacharóz-foszfát-glutaminsav pufferben (SPG) hígítottunk. Két hígításban használtuk a vizes jóddoldat és a boraxot (100–0.78 µg/ml között változó koncentrációban), a povidon-jódot (390–3 µg/ml között változó koncentrációban) és a klórhexidint (4–0,003 µg/ml között változó koncentrációban). Minden reagens a SIGMA-tól (St. Louis, MO, USA) származik, hacsak másképpen nem jelezzük.

Az antiszeptikumok *C. trachomatis* kultúrákra kifejtett hatásának direkt qPCR monitorozása

A már korábban leírt Bio-Rad CFX96 real-time rendszer segítségével direkt qPCR vizsgálatot végeztünk SsoFast EvaGreen qPCR Supermix (Bio-Rad) master mix és *C. trachomatis* pykF génspecifikus primer párok felhasználásával. Az qPCR-t olvadási görbe analízissel fejeztük be. A küszöbciklus-értékek (threshold cycle, Ct) statisztikai különbségeinek összehasonlítására a kísérleti körülmények között Student-féle t-próbát használtunk.

Az antiszeptikumok *C. trachomatis* szaporodására kifejtett hatásának immunfluoreszcens vizsgálata

A *C. trachomatis* növekedést immunfluoreszcens festés segítségével értékeltük. A chlamydiás góccok kimutatására Alexa-647-tel kapcsolt *chlamydia*-ellenes LPS antitestet alkalmaztuk. A fluoreszcens jeleket Axon GenePix Personal 4100A DNS chip szkennelével és GenePix Pro (6.1 verzió) szoftverrel (Molecular Devices, USA) elemeztük a Cy5 csatornán keresztül 5 µm-es felbontásban. A góccok számát ChlamyCount szoftver segítségével határoztuk meg.

Eredmények

A genitális *Ureaplasma* törzsek által okozott fertőzések incidenciája, korcsoport szerinti eloszlása, tünetei és antibiotikum-rezisztenciája

Az *Ureaplasma* fertőzés prevalenciája

A vizsgálatban résztvevő betegek *N. gonorrhoeae* és *C. trachomatis* fertőzöttségének lehetőségét megelőző mikrobiológiai vizsgálatok segítségével zártuk ki. Nőbetegeinktől 2114 mintát gyűjtöttünk. A minták közül 2047 méhnyaknyákból származott, ezek 11%-ából tenyésztünk ki *Ureaplasma*-t. További 59 húgycső mintát vettünk nőbetegeinktől, valamint 8 vizeletmintát is. A húgycsőből származó minták 7,02%-a pozitívnak bizonyult *Ureaplasma*-ra,

ezzel szemben az összes vizeletminta negatív eredményt adott. Ezen adatok alapján megállapítható, hogy a méhnyak minták a legalkalmasabbak *Ureaplasma* tenyésztére nők esetében. Férfi betegeinktől 2040 mintát gyűjtöttünk. A minták túlnyomó többsége húgycsóból származott. A húgycső minták 3,01%-ából tudtunk kitenyészteni *Ureaplasma*-t. Mindössze 15 minta volt ejakulátum, vizelet, vagy a glans törlet. Ezek közül egyetlen minta sem adott pozitív tenyésztési eredményt. Ebben a vizsgálati időszakban mindösszesen 229 női és 61 férfi *Ureaplasma* törzs került kimutatásra. Az *Ureaplasma* törzsek összprevalenciáját az egész populációra nézve 6,98%-nak találtuk. Eredményeinket a következő két év kutatási eredményei kis mértékben módosították: az *Ureaplasma*-fertőzött betegek prevalenciájában enyhe emelkedést tapasztaltunk.

Az *Ureaplasma*-pozitív betegek eloszlása az életkor és a tünetek gyakorisága szerint

Ureaplasma-pozitív nők és férfiak a kevesebb mint 16 éven aluliaktól a 60 éven felüliekig minden korcsoportban előfordulnak. A 20 éven felüli *Ureaplasma*-pozitív nőbetegek száma meredeken emelkedő tendenciát mutat a 26 éveseknél kezdődő plató szakaszig, majd 36 éves kortól fokozatosan csökken a 60 éven felüliek irányába. Az *Ureaplasma*-pozitív férfiak kor szerinti eloszlása merőben eltérő képet mutat. 20 éves kortól (5%) lineáris emelkedést tapasztaltunk, amely a 30 éveseknél tetőzik 25%-on. Ezt követően fokozatosan csökkenő tendenciával az 50. életévre 5% alá esik a gyakoriság, majd az 51–55 év közöttiekénél enyhe emelkedést találunk, amely a 60 év felettiekénél 0%-ra csökken. A tünetmentes személyek aránya az *Ureaplasma*-pozitív egyének körében mindkét nem esetében meghaladta a 40%-ot. A nők domináns klinikai tünetei a hüvelyváladékozás (23,53%), a nemi szervek viszketése (9,19%) és a kolpitis (11,76%). A férfiak jellemző klinikai tünetei az urethritis (35,48%), a balanitis (13,97%) és a húgycső váladékozása (7,52%) volt.

Az *Ureaplasma* törzsek antibiotikum rezisztenciája

A genitális mintákból tenyésztett 373 *Ureaplasma urealyticum/parvum* törzs antibiotikum-érzékenységének nem találtunk egyetlen *Ureaplasma* törzset sem, mely egyidejűleg minden vizsgált antibiotikumra érzékeny lett volna. Az *Ureaplasma* törzsek erythromycinnel és clindamycinnel szemben rendkívül magas arányban voltak ellenállóképesek. Ugyanakkor a törzsek csupán kevesebb mint 10%-a mutatott keresztrezisztenciát a két macrolid, a régebbi erythromycinnel és az újabb azithromycinnel szemben. Minden negyedik törzs rezisztenciát mutatott az ofloxacinnal, mint a fluorokinolonok képviselőjével szemben. A

doxycylin bizonyult a leghatékonyabb hatóanyagnak 97,32%-os érzékenységgel, amelyet a tetracyclin (95,9%), majd az azithromycin (85,79%) követett.

A terhességi és a veleszületett szifilisz szerológiája

Terhes, szifiliszos nők, valamint gyermekeik klinikai és szerológiai státusza

A 33 753 szérummintából három év alatt 241 terhes nő esetében találtunk szifilisz-pozitív szerológiai mintát. 230 anya esetében történt megfelelő prenatális ellátás. Közülük 217-en már terhességüket megelőzően adekvát szifilisz-ellenes terápiában részesültek. Ismételt kezelést javasoltunk számukra a magyarországi irányelveknek megfelelően. Ezek a nők 0–1:16 arányú RPR titerrel rendelkeztek, TPPA, EIA és IgG Western blot teszt eredményeik szintén pozitívak voltak, azonban az IgM Western blot vizsgálatok tekintetében negatív eredményt adtak. A gyermekek RPR titere 0–1:8-nak bizonyult, megegyezett vagy kisebb volt anyjuk eredményénél. A gyermekeiknél minden TPPA- és EIA-reakció pozitív eredményt adott, ugyanakkor az IgM Western blot vizsgálatok negatív eredményt mutattak. Ezek az újszülöttek nem fertőződtek meg, születéskor nem jelentkeztek náluk a veleszületett szifilisz tünetei. 11 nő nem részesült megfelelő prenatális ellátásban, látens szifiliszos betegként klasszifikáltuk őket. Ezeknél a betegeknél első alkalommal a szülés idején mi végeztünk reaktív szifilisz vizsgálatot és kaptunk eredményt. Hét anya negatív RPR és IgM Western blot eredményekkel, ugyanakkor pozitív TPPA, EIA és IgG Western blot reakciókkal *syphilis latens tarda* diagnózis besorolást kapott. A szülést követően gyermekeik RPR vizsgálati eredményei negatívak voltak, de a TPPA és az EIA pozitívnak bizonyult. Közülük egyetlen újszülöttnél sem találtunk pozitív IgM Western blot reakciót. A másik 4 anyát a szülés során *syphilis latens recens*szel diagnosztizálták 1:2 és 1:256 közötti RPR titerrel. Minden TPPA, EIA és IgG Western blot vizsgálat pozitív eredményt adott. Az egyik anya 1:64-es RPR titerrel korábban már negatív IgM Western blot eredményt mutatott. Gyermeke ugyanolyan szerológiai eredménnyel rendelkezett, és nem mutatta a szifilisz klinikai tüneteit. Megfelelő kezelést követően a 0., 3., 6., 9. és 12. hónapos utánkövetési vizsgálatok és szerológiai teszteredmények megerősítették a veleszületett szifilisz hiányát. Az utolsó három nő pozitív IgM eredményét a többi reaktív szifilisz-teszttel együtt a szüléskor fedeztük fel. Figyelemre méltó, hogy az első anyának, aki intravénás-kábítószer használó, csupán 1:2 arányú volt a RPR titere, de az egyik iker gyermeke közvetlenül a szülés után meghalt. Az elhunyt „A” újszülöttnél a RPR titere 1:8 volt. A „B” „újszülött” RPR titere 1:2, a treponemális tesztjei, beleértve az IgM Western blot vizsgálatot is, pozitívak voltak. A második anya - gyermek párnak azonos, 1:256 volt az RPR titere, a treponemális tesztek, így az IgM Western blot vizsgálatok is mindkettőjükben pozitivitást mutattak, ugyanakkor az

újszülött nem mutatta a veleszületett szifilisz tüneteit. Az utolsó anya RPR titere 1:64 volt, a TPPA, EIA és IgG, valamint IgM Western blotok pozitív eredményt adtak. Koraszülött lánygyermekének RPR titere 1:64 volt, pozitív TPPA, EIA és IgM Western blot reakciót mutatott. Ebben az esetben a koraszülés volt a veleszületett szifilisz egyetlen, nem specifikus klinikai megnyilvánulása.

Az antiszeptikumok *C. trachomatis* szaporodására kifejtett hatása

Antiszeptikumokkal inkubált HeLa sejtek életképessége

Az antiszeptikumok HeLa humán méhnyaki hámsejtek életképességére kifejtett hosszú távú hatását vizsgáltuk. A HeLa sejtek életképességét 48 órás inkubációt követően MTT vizsgálat segítségével határoztuk meg. A legnagyobb nem toxikus koncentráció a povidon-jód esetében 390 µg/ml, a vizes jódoldatnál 200 µg/ml, a klórhexidin esetében 2 µg/ml, a boraxnál pedig 25 µg/ml volt. A borax esetében a legnagyobb nem toxikus koncentráció 25 µg/ml volt, ugyanakkor a sejtek életképessége még 400 µg/ml koncentráció mellett is elérte a 80%-ot.

Az antiszeptikumok *C. trachomatis* kultúrákra kifejtett hatásának direkt qPCR meghatározása

Az antiszeptikumok *Chlamydia*-ellenes aktivitásának meghatározására direkt qPCR módszert alkalmaztunk. Preinkubációt követően (37° C, 1 h) HeLa sejteket fertőztünk *C. trachomatis* baktériumokkal úgy, hogy a fertőzés multiplicitása (multiplicity of infection, MOI – átlagosan hány baktérium fertőz egy sejtet) 8 volt povidon-jód, klórhexidin, vizes jódoldat és borax sorozat 1:2 arányú hígítása mellett, a maximális nem toxikus koncentrációkból kiindulva. Az antiszeptikumok MIC (minimum inhibitory concentration) értékeit az előzőekben leírtak szerint számítottuk ki.

Röviden összefoglalva Student-féle t-próba segítségével összehasonlítottuk adott antiszeptikum koncentrációnál a három párhuzamos lyukban mért *Chlamydia* DNS-koncentrációkat a legmagasabb antiszeptikum koncentráció (ezt tekintettük inokulumnak, oltóanyagnak) három párhuzamos lyuknál mért Ct-értékekkel. Azt a legalacsonyabb antiszeptikum koncentrációt tekintettük MIC-értéknek, ahol a Ct-értékek nem változtak szignifikánsan az inokulumhoz képest. A povidon-jód MIC-értéke 97 µg/ml, a klórhexidin MIC-értéke körülbelül 4 µg/ml volt. A vizes jódoldat és a borax nem mutatott *Chlamydia*-ellenes aktivitást a vizsgált koncentrációtartományban.

Antiszeptikumok qPCR gátló hatásának becslése

Mivel a szaporodással együttjáró *Chlamydia* DNS-szintézist qPCR módszerrel mértük, megvizsgáltuk, hogy az alkalmazott antiszeptikumok gyakorolnak-e közvetlen gátló hatást a qPCR-re. Ez a hatás fals pozitív *Chlamydia*-ellenes aktivitásként jelenhetett meg. A povidon-jód, a klórhexidin, a vizes jódoldat és a borax keverékek Ct-szintje mindössze 1,33; 0,79; 0,85 és 1,28 ciklussal volt magasabb a kezeltlen *C. trachomatis* fertőzött sejtlizátuménál, ezért megállapítható, hogy az antiszeptikumok megfigyelt *Chlamydia*-ellenes hatása nem a qPCR gátlásának tulajdonítható.

Az antiszeptikumok *C. trachomatis* szaporodásra kifejtett hatásának mérése ChlamyCount immunfluoreszcens módszerrel

A qPCR eredmények független rendszerben történő validálásához sejtenyésző kamrában MOI 8-as *C. trachomatis* fertőzéseket hoztunk létre a qPCR-nál használt legmagasabb antiszeptikum koncentrációk mellett. A gócok számát a ChlamyCount szoftver segítségével meghatározva 94–94%-os csökkenést láttunk mind a povidon-jód és a klórhexidin esetében, míg vizes jódoldat esetében 13%-os, a borax esetében pedig 43%-os volt a csökkenés.

Megbeszélés

Az *U. urealyticum/parvum* incidenciája és antibiotikum-érzékenysége

Az *Ureaplasma* a humán urogenitális traktus gyakori baktériumai. Tünetmentes férfiak szűrése 11%-ban mutatott kolonizációt. Az *Ureaplasma* gyerekekben (5%), szexuálisan inaktív reprodukzív korú nőkben (40%), szexuálisan aktív nőkben (60–80%) és posztmenopauzás nőkben (25%) is megtalálható. Terhesség alatt a kolonizációs ráta akár 82% is lehet, gyermekágyban pedig 24%. Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy az *U. urealyticum/parvum* törzsek mindkét nemben nagy előfordulási arányt mutatnak a magyar lakosság körében. Az *U. urealyticum/parvum* fertőzöttség minden szexuálisan aktív korcsoportban fellelhető; a legtöbb izolátum mind a férfiak, mind a nők körében a 21–40 éves korosztályból származott. A tünetek szempontjából is végeztünk vizsgálatokat. A tünetmentes hordozók aránya mindkét nemben meghaladta a 40%-ot. Saját *Ureaplasma* antibiotikum rezisztencia eredményeinket a nemzetközi szakirodalomban megjelentekkel összehasonlítva bizonyos antibiotikumok, a macrolidek, clindamycin és tetracyclin esetében, valamint a kiemelkedően magas erythromycin- és clindamycin-rezisztencia és keresztrezisztencia esetében is hasonló tendenciákat találtunk, ugyanakkor a fluorokinolonokkal szembeni érzékenységet vizsgálva eltérő rezisztencia eredményeket kaptunk. Az erythromycin- és a

clindamycin-rezisztencia meghatározására alkalmazott vizsgálati módszerünk csupán konstitutív keresztrezisztenciát mutatja. Az irodalmi adatok szerint az *Ureaplasma*val szemben az azithromycin és a josamycin a leghatékonyabb antibiotikum, azonban izolálódtak már rezisztens törzsek. Adataink azt mutatták, hogy az azithromycin hatásos volt a magyarországi *Ureaplasma* törzsekkel szemben is. Vizsgálatunkban a fluorokinolonok csoportját a 25,2%-os rezisztenciával az ofloxacin képviselte. A magyarországi helyzet ennek alapján más országokkal összevetve szignifikánsan kedvezőbbnek bizonyult. A tetracyclin 95,9%-ban volt hatásos a magyarországi *Ureaplasma* törzsekkel szemben. A doxycyclin bizonyult a leghatásosabb elsőként választandó szernek *Ureaplasma* fertőzések esetében, mivel csupán a törzsek 2,41%-ában észleltünk rezisztenciát. Terhesség alatt, újszülött-korban és allergia esetén az elsőként választandó szer az azithromycin. *U. urealyticum/parvum* infekció gyanúja esetén az első sikertelen antibiotikum kúrát követően javasolt rezisztencia vizsgálatot végezni. A legmodernebb megközelítés azonban az antibiotikumos terápiát megelőző érzékenységi vizsgálat elvégzése lenne.

A terhességi és a veleszületett szifilisz szerológiai azonosítása a magyar lakosság körében

A világon évente közel kétmillió terhes nő fertőződik meg *T. pallidum*mal. A kezeletlen szifilisz nők mintegy 50%-a fertőzte meg újszülött gyermekét, amely súlyos károsító következményeket von maga után, becslések szerint 440 000 perinatális halálesetet okozva évente. 1994 óta szinte minden évben született veleszületett szifilisz gyermek Magyarországon. 2007-ben egy, 2008-ban pedig két ilyen esetet jegyeztek fel. A szűréshez használt RPR-teszt előnye, hogy olcsó, széles körben elérhető, és használható a kezelés hatékonyságának meghatározására is. Ennek a nem-treponemális tesztnek a hátrányai közé tartozik, hogy az elsődleges és a késői szifilisz azonosítására nem terjed ki érzékenysége, valamint a prozona reakció és a fals pozitív eredmény lehetősége. A treponemális tesztek, mint az EIA és TPPA technikailag nehezebben kivitelezhetők és drágábbak, ugyanakkor évekig reaktívak maradnak kezelés mellett vagy anélkül is. Számos olyan antigént azonosítottak, amely magas ellenanyag titert vált ki *T. pallidum* fertőzés során, de nem keresztreakál olyan betegek szérumával, akik egyéb gyakori spirochéta betegségben szenvednek. A TPPA- és EIA-teszteket ezen rekombináns antigének felhasználásával fejlesztették ki.

A 241 szifiliszre pozitív teszteredményt adó anya közül 217-en terhességüket megelőzően sikeres kezelésen estek át. Tizenhárom anya, akiket terhességük ideje alatt diagnosztizáltak szifilisszel, beleegyezett a kezelésbe. A fennmaradó 11 anya fertőzöttségére csupán a szülés során derült fény. Mind a négy veleszületett szifilisz újszülött olyan anyától származik, aki nem részesült prenatális ellátásban és szifilisz szűrése elmaradt. Az anya–

gyermek transzmisszió gátlás sikerességi aránya (sikeres beavatkozások száma/azon szifilisz-pozitív nők száma, akik transzmisszió gátlásban részesültek) eseteinket tekintve 100%-nak bizonyult. *Rawstron és mtsai* szerint az anyai IgM státusz jobb mutatója a veleszületett szifilisz kockázatának mint az anyai RPR titer 1:16 fölötti értékkel. Leírták azonban, hogy sem az 1:16 feletti titer, sem a TP IgM reaktivitás nem tudott azonosítani minden olyan anyát, aki fertőzött csecsemőt szült; találtak olyan veleszületett szifilisz újszülöttet, akinél az anyai TP IgM negatívnak bizonyult és RPR titere is alacsonyabb volt, mint 1:8. Vizsgálatunkban a veleszületett szifilisz ikerpár édesanyjának a titere csupán 1:2 volt. Egyik fertőzött gyermek édesanyja sem bizonyult IgM negatívnak vizsgálataink során. Azon kezeletlen anyák gyermeke, akiknek RPR titere 1:64, de negatív volt IgM-re nézve, nem fertőződött meg. A fertőzött magzat 3. hónapot követően már *in utero* körülmények között képes IgM molekulát termelni. A korábbi ELISA és *T. pallidum* IgM Western-Blot vizsgálatok is azt mutatták, hogy az IgM antitesteket nem lehet kimutatni minden veleszületett szifilisz gyermek esetében. A veleszületett szifilisz szerodiagnózisa nem egyszerű, mivel az IgG antitestek az édesanyából át tudnak jutni a magzatba. A magzat IgM antitesteket (rheumatoid faktor, RF) termel az anyai IgG ellen. IgG-RF komplex kötésbe lép az IgM Western blottal, vagy az anyai IgG és a magzati IgM kompetícióba lép az antitest kötő pozícióért, amely többségében fals pozitív, esetleg fals negatív teszt eredményhez vezet. Reaktivitást a 45, 17 és 15 kDA méretű antigénekkal szemben csak egy esetben találtunk. Megfigyeléseink megerősítették, hogy a születés előtti szifilisz szűrés párhuzamos treponemális (EIA, TPPA) és nem treponemális (RPR) teszttel elősegíti a szifilisz terhesség alatti azonosítását és kezelését. A sikeres kezelés megakadályozza a vertikális transzmissziót. Az IgM Western blot vizsgálat használata lehetőséget teremt a magas kockázati tényezőjű újszülöttek azonosítására és kezelésére.

***Különféle antiszeptikumok C. trachomatis* elleni antimikrobiális aktivitásának mérése**

Teszteltük különféle, intravaginálisan alkalmazható antiszeptikumok citotoxikus és *Chlamydia*-ellenes hatásait. A citotoxicitás-teszt azt bizonyította, hogy a jód és a borax a tesztelt koncentrációkban nincsen hatással a HeLa méhnyaki epiteliális sejtvonalak életképességére, ezzel szemben a povidon-jód és a klórhexidin koncentráció-függő toxicitást mutatott 48 órával (a *C. trachomatis* szaporodási ciklusának hossza) az inkubációt követően. Ezen két antiszeptikum esetében a legnagyobb, nem toxikus koncentrációt használtuk további vizsgálatainkban, amelyek a *Chlamydia*-ellenes hatás feltárására irányultak. A *Chlamydia* elemi testeket (elementary body, EB) antiszeptikumokkal előinkubáltuk, imitálva ezen vegyületek hatását a *C. trachomatis* extracelluláris fertőző formájára. Mindazonáltal nem zárható ki, hogy ezek az antiszeptikumok a gazdasejtekbe transzportálódva hatással lehetnek a baktériumok

intracelluláris fejlődésére is. További tanulmányok szükségesek az antiszeptikumok intracelluláris hatásának vizsgálatára.

A chlamydia szaporodás gátlásának az úgynevezett *C. trachomatis* zárványok immunfluoreszcens festéssel történő vizsgálata helyett az utóbbi időben kifejlesztett qPCR alapú *Chlamydia* DNS felhalmozódást mértünk, amely a replikáció jelzője. A qPCR adatok alátámasztották a klórhexidin és a povidon-jód *Chlamydia*-ellenes hatásait, ezzel szemben a vizes jóddoldat és a borax nem mutatott ilyen aktivitást a vizsgált koncentrációtartományban. A klórhexidin mutatta a legalacsonyabb *Chlamydia*-ellenes MIC-értéket, de ez a MIC megközelítette a legmagasabb nem toxikus koncentrációt, végeredményben tehát a terápiás indexe alacsony. Adataink alapján a klórhexidin hatékony *Chlamydia*-ellenes szer *in vivo*, azonban a hosszú távú hüvelygél terápia helyett célszerűbb lenne rövid öblítések formájában használni. Másrésről a povidon-jód MIC-értéke 97 µg/ml volt, emellett a legnagyobb nem toxikus koncentrációja 390 µg/ml, ezért ez az antiszeptikum megfelelő lehet hosszú távú intravaginális alkalmazásra.

A qPCR alapú növekedés vizsgálataink érvényességének ellenőrzésére immunfluoreszcencia alapú ChlamyCount szaporodás mérő rendszert is használtunk. A ChlamyCount adatok a povidon-jód és a klórhexidin esetében alátámasztották a qPCR vizsgálatok eredményét, mindemellett a mért növekedés csökkenés kisebb mértékű volt a qPCR által meghatározottnál. Ennek háttérében a dinamikatartomány különbözősége állhat, amely az immunfluoreszcens ChlamyCount módszer esetében hozzávetőlegesen 2 log₁₀ volt, amíg a qPCR módszeré körülbelül 5 log₁₀.

A qPCR eredményekkel szemben a ChlamyCount módszer kismértékű *Chlamydia* szaporodás gátlást mutatott a vizes jóddoldat és a borax esetében is. Az a tény, hogy a *Chlamydia* DNS szintézis folyamatos maradt a két utóbbi vegyület alkalmazásakor is, azonban a zárványok száma némileg csökkent, arra enged következtetni, hogy a vizes jóddoldat és a borax által kezelt *Chlamydia* EB-k kis része ellenállóvá vált és fenntartotta a *Chlamydia* DNS szintézist kisebb vagy kevésbé intenzív zárványokat képezve, amelyeket a ChlamyCount módszer nem volt képes detektálni.

Mindent egybevetve eredményeink megmutatták, hogy a povidon-jódnak van a legszélesebb *Chlamydia*-ellenes terápiás indexe, és intravaginális alkalmazás esetén is képes a hatás fenntartására. Mivel a *C. trachomatis* fertőzés bakteriális vaginózishoz is kapcsolódhat, a povidon-jód mindkét kórkép egyidejű kezelésére vagy visszaszorítására is alkalmas lehet.

Az értekezés új eredményei

1. Megállapítottuk, hogy a szexuálisan aktív, felnőtt magyar női és férfi populációban az *U. urealyticum/parvum* előfordulási gyakorisága jelentős.
2. Rávilágítottunk, hogy a magyar populációban az *Ureaplasma*-pozitív férfiak és nők koreloszlása jelentősen különbözik.
3. Széleskörű antibiotikum-rezisztencia vizsgálatot végeztünk a magyar *Ureaplasma* izolátumokon. Erythromycinnel és clindamycinnel szemben rendkívül rezisztencia arányt találtunk, ugyanakkor ritkán jött létre konstutatív keresztrezisztencia a két vizsgált macroliddel, a régebbi erythromycinnel és az újabb azithromycinnel szemben. Minden negyedik törzs rezisztenciát mutatott az ofloxacinnal mint a fluorokinolonok képviselőjével szemben. A doxycyclin bizonyult a leghatékonyabb szernek 97,3%-os érzékenységgel, amelyet a tetracyclin, majd az azithromycin követett. Az erythromycin- és a clindamycin-rezisztens törzsek rendkívül nagy aránya miatt az *Ureaplasma* fertőzés kezelésére vonatkozó jelenlegi módszertani útmutató módosítását javasoljuk, nevezetese az erythromycin helyett az azithromycint célszerű az útmutatóban megnevezni. Emellett az erythromycin alkalmazása növelné újabb ellenálló törzsek kialakulásának és szelektálódásának veszélyét.
4. Vizsgáltuk a terhességi és a veleszületett szifilisz incidenciáját a magyar lakosság körében. Arra a következtetésre jutottunk, hogy az anyai IgM Western blot vizsgálati eredmények alkalmasabbak azon anyák azonosítására, akiknél nagyobb a rizikója, hogy veleszületett szifilisz gyermekét szülnék, mint az anyai RPR titer magas vizsgálati eredménye.
5. A vizsgálat során a magyarországi újszülöttekről gyűjtött adataink alátámasztották a veleszületett szifilisz korábbi szerológiai eredményeinket. Újszülöttek esetében a csecsemő immunválaszától függő IgM tesztel specifikusabban diagnosztizálható a veleszületett szifilisz mint a magzati IgG-vel, mivel az anyai IgG átjut a placentán.
5. Négy hüvelyi antiszeptikum *Chlamydia*-ellenes hatását vizsgáltuk. Kimutattuk, hogy a povidon-jód és a klórhexidin szignifikáns *Chlamydia*-ellenes aktivitást eredményezett olyan koncentrációban, amely a gazdasejt epiteliális sejtjeire még nem toxikus. A povidon-jód terápiás indexe magasabbnak bizonyult a klórhexidinénél, és ez nagyobb klinikai biztonságot nyújt *in vivo* körülmények között.

Köszönetnyilvánítás

Nagyon hálásan köszönöm Prof. Dr. Kárpáti Sarolta egyetemi tanárnak mint a Semmelweis Egyetem Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika korábbi igazgatójának, hogy befogadott, és Dr. Rozgonyi Ferenc professor emeritusnak, e Klinikán működő Országos STD Mikrobiológiai Diagnosztikai Laboratórium korábbi vezetőjének, hogy irányított az Ureaplasma kutatások rá vonatkozó részében, valamint a publikációim társszerzőinek, hogy részt vehettem ezekben tanulmányokban.

Hálás vagyok Dr. Virok Dezső, a Szegedi Tudomány Egyetem Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet egyetemi docensnek a *C. trachomatis* kísérletek tervezésében és kivitelezésében nyújtott pótolhatatlan segítségéért, továbbá a disszertációm témavezetéséért. Nagyon köszönöm mind a budapesti mind a szegedi laboratórium asszisztenseinek pontos és szakszerű munkáját, valamint Tölgyesi Ágnes a Békés Megyei Pándy Kálmán Kórház könyvtárosnak a disszertáció készítéséhez nyújtott technikai munkáját.

Köszönettel tartozom Bártfai György Professzor Úrnak, valamint Németh Gábor Tanár Úrnak a szegedi Női Klinika Igazgatójának az állandó és készséges szakmai segítő munkájáért.

Köszönöm Major Tamás Tanár Úrnak a támogató és segítő munkáját

Végül, de nem utolsó sorban, köszönöm szüleim, testvérem, a feleségem Szöllősi Andrea és fiaink László és Levente türelmét, biztatását és folyamatos segítségét, melyekre abszolút szükségem volt a disszertáció készítése során.

Társszerzői nyilatkozatok

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
Általános Orvostudományi Kar
Doktori Iskola elnöke
SZEGED

Levelező szerzői nyilatkozat

Dr. Ostorházi Eszter, PhD, Semmelweis Egyetem Orvosi Mikrobiológia Intézet egy adjunktusa, igazolom, hogy

Dr. Párducz László :“Influence of bacterial infections on reproductive health”

című PhD értekezésében szereplő alábbi cikk

Nemes-Nikodém É., Vörös E., Pónyai K., Párducz L., Kárpáti S., Rozgonyi F., Ostorházi E.
The importance of IgM positivity in laboratory diagnosis of gestational and congenital syphilis.
Eur J Microbiol Immunol 2012, 2: 157-160.

kidolgozásában Dr. Párducz László, mint társszerző aktívan részt vett. Emellett igazolom, hogy a fenti cikk kizárólag e PhD értekezés részét képezi.

Budapest, 2016-11-08


Dr. Ostorházi Eszter
levelező szerző



SEMMEIWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar

Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika - Igazgató: Dr. Kárpáti Sarolta egyetemi tanár
1085 Budapest, VIII. Mária u. 41. Tel.: 459-1500, Fax: 267-6974



Dr. Párducz L. PhD fokozatszerzéséhez

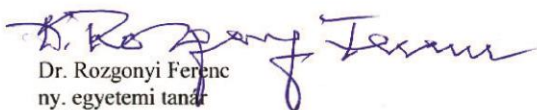
Szegei Tudomány Egyetem
Általános Orvostudományi Kar
Doktori Iskola Elnökének
Szegei

FELELŐS SZERZŐI NYILATKOZAT

Alulírott, Dr. Rozgonyi Ferenc egyetemi tanár, az MTA doktora hivatalosan igazolom, hogy **Dr. Párducz László** a Békés Megyei Önkormányzat Pándy Kálmán Kórház-Rendelőintézetének szülész-nőgyógyász osztályvezető főorvosa a velem közösen publikált közlemények tervezésében és a klinikai részek elkészítésében aktívan részt vett.

Ezeknek a közleményeknek a tartalmát eddig egyetlen szerző sem használta fel a PhD disszertációjának elkészítéséhez és tudomásom szerint a közeli jövőben egyik sem kívánja felhasználni.

Budapest, 2015. december 29.


Dr. Rozgonyi Ferenc
ny. egyetemi tanár
önkéntes segítő

Semmelweis Egyetem
Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika
1085 Budapest
Mária u. 41.

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
Általános Orvostudományi Kar
Doktori Iskola elnöke
SZEGED

Levelező szerzői és társszerzői nyilatkozat

Dr. Rozgonyi Ferenc, MTA doctor, professor emeritus, a kutatási vizsgálatok irányítója és vezetője igazolom, hogy **Dr. Párducz László** osztályvezető főorvos

“Influence of bacterial infections on reproductive health”
című PhD értekezésében szereplő alábbi cikkek:

Juhász E., Ostorházi E., Pónyai K., Silló P., Párducz L., Marschalkó M., Rozgonyi F.: Ureaplasmas: from commensal flora to infectious diseases.

Rev. Med. Microbiol. 2011, **22**: 73-83.

Farkas B., Ostorházi E., Pónyai K., Tóth B., Párducz L., Elmardi A., Marschalkó M., Kárpáti S., Rozgonyi F.: Az *Ureaplasma urealyticum* és a *Mycoplasma hominis* antibiotikum-érzékenysége és gyakorisága szexuálisan aktív egyének genitális mintáiban.

Orv. Hetil. 2011, **152**: 1698-1702.

Párducz L., Ostorházi E., Pónyai K., Mihalik N., Párduczné Szöllősi A., Rozgonyi F.: A reprodukciót befolyásoló fiatalkori bakteriális STD fertőzések.

Nőgyógy. Szül. Továbbk. Szemle 2013, **15**: 97-101.

Pónyai K., Mihalik N., Ostorházi E., Farkas B., Párducz L., Marschalkó M., Kárpáti S., Rozgonyi F.: Incidence and antibiotic susceptibility of genital mycoplasmas in sexually active individuals in Hungary.

Eur. J. Clin. Microbiol., Infect. Dis. 2013, **32**: 1423-1426.

kidolgozásában, mint társszerző aktívan részt vett.

Emellett igazolom, hogy a fenti cikkek kizárólag e PhD értekezés részét képezik.

Budapest, 2016.11.18.


Dr. Rozgonyi Ferenc

Társszerzői nyilatkozat

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
Általános Orvostudományi Kar
Doktori Iskola elnöke
SZEGED

Társszerzői nyilatkozat

Tárgy: Pónyai K., Mihalik N., Ostorházi E., Farkas B., Párducz L., Marschalkó M., Kárpáti S., Rozgonyi F.: Incidence and antibiotic susceptibility of genital mycoplasmas in sexually active individuals in Hungary.

Eur. J. Clin. Microbiol., Infect. Dis. 2013, 32: 1423-1426. közlemény.

Alulírott, Dr. Mihalik Noémi, a fenti közlemény társszerzője hozzájárulok ahhoz, hogy Dr. Párducz László társszerző, a gyulai Pándy K. Kórház Szülészeti és Nőgyógyászati Osztályának osztályvezető főorvosa az *"Influence of bacterial infections on reproductive health"* című, már elkészített és a Szegedi Tudomány Egyetem ÁOK Doktori Iskolájához benyújtásra váró PhD értekezésében a fenti cikkből az *Ureaplasma urealyticum*ra vonatkozó rezisztencia adatokat aktualizálva felhasználja és interpretálja az ureaplasma fertőzéseknek a reprodukciós egészséget befolyásoló hatásai és ezek megelőzése szempontjából.

A közleményben szereplő *Ureaplasma urealyticum* és *Mycoplasma hominis* előfordulási gyakoriságára, valamint a *Mycoplasma hominis* rezisztencia viszonyaira vonatkozó adatok a *"Genitális Mycoplasma fertőzések autoimmun betegséget indukáló hatása"* című doktori disszertációmban szerepelnek.

Budapest, 2017-03-01.

Tisztelettel:

Dr. Mihalik Noémi

Dr. Mihalik Noémi
PhD. hallgató
Semmelweis Egyetem
Bőr, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika



SEMMEIWEIS EGYETEM
Budapest, 1085 Üllői út 26.
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
Bőr-Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika
1053 Mária u. 41.



Társszerzői lemondó nyilatkozat

Alulírott Dr. Virok Dezső Péter (felelős társszerző) kijelentem, hogy Dr. Párducz László (pályázó) Ph.D értekezésének tézispontjaiban bemutatott - közösen publikált - tudományos eredmények elérésében a pályázónak meghatározó szerepe volt, ezért ezeket a téziseket más a Ph.D fokozat megszerzését célzó minősítési eljárásban nem használta fel, illetve nem kívánja felhasználni.

Szeged, 2017. június 8.

Dr. Virok Dezső Péter

A pályázó tézispontjaiban érintett, közösen publikált közlemények:

Impact of antiseptics on *Chlamydia trachomatis* growth.

Párducz L, Eszik I, Wagner G, Burián K, Endrész V, Virok DP.

Lett Appl Microbiol. 2016 Oct;63(4):760-7